



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

Le attività svolte presso i laboratori del CIRI Agroalimentare, Università di Bologna, hanno riguardato l'analisi di carciofini sott'olio prodotti dall'azienda INPA (riferimento dott.ssa Daniela Innocenti) secondo la ricetta COOP. I campioni erano così denominati:

- “F” CARCIOFI FERMENTATI IN FUSTO (12 pz) Carciofi interi
- “NF” CARCIOFI Non fermentati da latta pastorizzata (12pz) Carciofi interi
- “FRESCO” CARCIOFI Confezionati dal fresco (6pz) “Carciofi Crudi di Puglia”

Le analisi effettuate avevano lo scopo di valutare in che modo le scelte varietali e/o il processo produttivo influenzassero le caratteristiche del prodotto finito.

In particolare sono stati eseguite le seguenti analisi:

- Analisi dei metaboliti volatili mediante GC-MS-SPME
- Analisi della consistenza (Texture Analyzer)
- Contenuto in fibre solubili ed insolubili (kit Megazyme)
- Potere antiossidante complessivo
- Contenuto dei principali componenti delle famiglie dei polifenoli
- Contenuto in acido ascorbico
- Contenuto in acido folico

1) ANALISI DEI METABOLITI VOLATILI

L'analisi delle molecole volatili è stata effettuata tramite GC-MS-SPME (microestrazione in fase solida abbinata a gas cromatografia e spettrometria di massa). In particolare 3 g di campioni sono stati posti in vials e scaldati a 40°C, in modo che le molecole volatili vengano liberate nello spazio di testa. Il 4 metil-2pentanolo ad una concentrazione finale di 20ppm è stato usato come standard interno. In seguito è stata inserita nello spazio testa una fibra di silice fusa ricoperta da una fase fissa mista parzialmente reticolata di divinilbenzene-carboxen-polidimetilsilossano (DVB-carboxen/PDMS). Dopo 40 min di adsorbimento, in cui le molecole volatili vengono raccolte e trattenute sulla fibra, essa viene inserita all'iniettore



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

del GC in modo che le molecole vengano eluite in colonna e successivamente separate ed identificate. Tale tecnica consente di rilevare sia le molecole naturalmente presenti e caratterizzanti gli alimenti, sia metaboliti derivanti dal metabolismo microbico.

Le analisi effettuate hanno permesso di identificare e quantificare circa 57 metaboliti (tabella 1) appartenenti a famiglie chimiche diverse quali alcoli, chetoni, aldeidi, acidi grassi a corta catena, terpeni e lattoni.

MOLECOLA	F	NF	FRESCO
butane	0.00	0.09	0.17
ethyl acetate	1.47	2.09	0.51
ethyl alcohol	1.94	6.14	0.54
2,3 butanedione	0.08	0.01	0.01
pentanal	0.29	0.25	0.00
3 methyl butanal	0.00	0.01	0.08
NI 1	0.15	0.18	0.17
2,4 pentanedione	0.09	0.14	0.10
2-butanol	0.01	0.02	0.05
hexanal	0.22	0.10	0.25
beta-pinene	0.01	0.02	0.09
b-fellandrene	0.04	0.03	0.04
4 methyl 2-hexanone	0.08	0.08	0.08
3 hexen-2-one	0.21	0.21	0.16
2,6 dimethyl 4 heptanone	0.07	0.10	0.09
dodecane	0.03	0.09	0.07
3 methyl butanol	0.22	0.40	0.26
limonene	0.04	0.03	0.21
2- hexanol	0.03	0.02	0.02
eucalyptol	0.33	0.35	0.00
3 heptanal	0.02	0.02	0.03
2 pentyl furane	0.09	0.08	0.11
1pentanol	0.06	0.06	0.02
3-metil-3-buten-1-olo	0.00	0.03	0.04
cumene (1,2,4-trimetilbenzene)	0.01	0.02	0.02
cimene	0.12	0.12	0.11
m-Mentha-1,8-diene	0.01	0.02	0.02
3 hydroxy 2 butanone	0.37	0.06	0.17
NI 2	0.02	0.03	0.09
1 decen-3-one	0.27	0.18	0.05
2,3 octanedione	0.11	0.10	0.13
2 heptenal	0.51	0.36	0.19
esanolo	0.02	0.00	0.02
nonanal	0.24	0.31	0.33
benzene 1,4 bis (1,1dimetyl ethyl)	0.05	0.08	0.11
1octen-3-ol	0.06	0.04	0.00



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

acetic acid	8.18	5.00	17.38
Cis-beta-terpineolo	0.06	0.04	0.04
furfural	0.21	0.12	1.70
3-ethyl-4-methyl-pentnol	0.05	0.01	0.05
decanale	0.03	0.05	0.02
propanoic acid	0.06	0.06	0.05
1-octanolo	0.02	0.02	0.01
2-nonenal	0.02	0.02	0.01
benzaldehyde	0.05	0.04	0.01
acido butanoico	0.00	0.00	0.05
caryophyllene	0.54	0.97	0.44
NI 3	0.21	0.22	0.23
3 methyl butanoic	0.10	0.11	0.42
thiofene ethanol	0.83	1.03	0.84
benzocycloheptene	0.07	0.08	0.01
β -selinene (eudesma 4(14) 11 diene)	2.23	2.90	0.86
hexanoic acid	0.07	0.10	0.13
phenylethyl alcohol	0.14	0.21	0.17
octanoic acid	0.08	0.12	0.04
nonanoic acid	0.01	0.09	0.03

Tabella 1. Molecole volatili rilevate mediante GC-MS-SPME (espressi in ppm)

Come è evidente dalla tabella, tali molecole sono presenti in diversi livelli nelle 3 tipologie di campioni. In particolare, il campione F è caratterizzato da una maggiore presenza di chetoni quali acetoino (3-hydroxy, 2-butanone), molecola ad impatto aromatico prodotta dai batteri lattici, e 1-decen-3-one. Per quel che riguarda il campione NF, esso è caratterizzato da un'elevata concentrazione di etanolo (circa 6 ppm); questo fa ritenere vi sia stata, ad un certo punto, una fermentazione alcolica ad opera di lieviti o di lattici eterolattici. Sia i campioni F che NF contengono una elevata quantità di β -selinene, che è una molecola caratterizzante del carciofo. Tale molecola è tuttavia presente a bassi livelli nel campione FRESCO. Questo potrebbe dipendere dal processo adottato o dagli stessi carciofi usati. Inoltre il FRESCO contiene, probabilmente per una diversa formulazione, molto acido acetico (17 ppm) e furfurale. Alcune delle molecole identificate in tutti i campioni sono tipiche delle spezie come eucaliptolo, cimene, cis- β -terpineolo, il cariofillene ecc.



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

2) ANALISI STRUTTURALE MEDIANTE TEXTURE ANALYZER

Per valutare se le differenze in termini di tenerezza/fibrosità è stato effettuato un test di taglio tramite Texture Analyzer, usando una cella di carico da 5kg. Per ogni tipologia di campione sono stati effettuati 20 tagli, sempre in senso longitudinale. I campioni sono stati prelevati da diverse confezioni. I dati ottenuti sono riportati tabella 2 (con relativa deviazione standard) e indicano la forza massima richiesta per tagliare il carciofino. Come si può osservare, il campione FRESCO è caratterizzato da una elevata durezza (circa 6 volte maggiore degli altri due campioni) e resistenza al taglio.

	F	NF	FRESCO
Durezza (kg)	0.75	0.55	4.64
Dev standard	0.14	0.14	0.97

Tabella 2. Risultati relativi al test di durezza al taglio (espressi in kg)

3) CONTENUTO IN FIBRE SOLUBILI ED INSOLUBILI

La valutazione del contenuto in fibre solubili (Soluble Dietary Fibre, SDF) ed insolubili (Insoluble Dietary Fibre, IDF) è stata effettuata con kit Megazyme secondo il metodo descritto da Prosky *et al.* (1992). I risultati delle fibre solubili ed insolubili sono stati ottenuti per sottrazione delle ceneri, determinate col metodo di Prosky *et al.* (1992), e delle proteine (Nx6,25), determinate col metodo Kjeldahl (figura 1).

Si può osservare come il campione non fermentato (NF) presenti il contenuto più alto (54%) in fibre totali (Total Dietary Fibre, TDF), mentre i campioni F e Fresco sono sostanzialmente simili. Per quel che riguarda le fibre insolubili (IDF), i valori ottenuti non mostrano differenze significative per le tre tipologie di campioni; al contrario, i campioni si differenziano per il contenuto in fibre solubili (SDF), che sono maggiormente presenti nel campione NF, dove raggiungono il 43% sul peso secco.



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

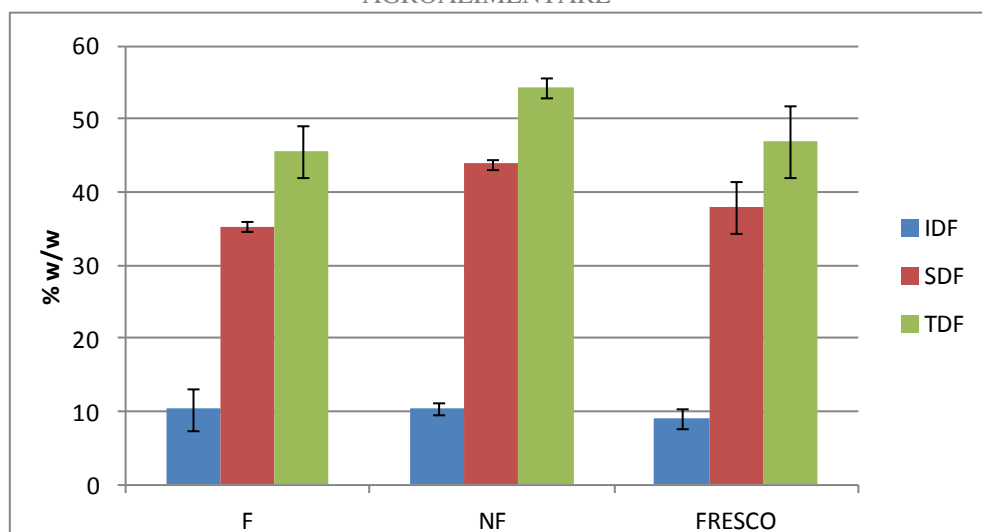


Figura 1. Contenuto in fibre solubili e insolubili (espressi come % sul peso secco)

4) CONTENUTO DEI PRINCIPALI COMPONENTI DELLE FAMIGLIE DEI POLIFENOLI

Al fine di caratterizzare quali-quantitativamente i composti fenolici presenti nei carciofini oggetto di studio, su 100 mg di campione liofilizzato si è proceduto all'estrazione dei fenoli stessi utilizzando una miscela di metanolo/acqua 70:30 v/v a temperatura ambiente ed in costante agitazione per 1 ora. Per ogni campione l'analisi è stata ripetuta in triplo.

L'estratto fenolico è stato quindi analizzato mediante HPLC/MS secondo il metodo descritto da Gomez Caravaca *et al.* (2011). Tale metodo ha permesso, con una buona separazione cromatografica, l'identificazione di 12 composti fenolici, appartenenti a diverse famiglie, tipici dei carciofi. In particolare, la famiglia più abbondante era costituita dagli acidi fenolici, nello specifico come isomeri dell'acido dicaffeoilchinico (DCA). Sono stati identificati anche flavonoidi quali apigenina e il suo derivato apigenina glucuronide (GLR) ma anche luteolina, luteolina rutinoside (RUT), luteolina glucuronide (GLR) e luteolina glucoside (GLC).

I tracciati cromatografici tipici dei campioni analizzati sono riportati nelle figure 2a, 2b e 2c.

Dal confronto fra i tre diversi campioni analizzati, i cui dati sono riassunti in tabella 3 e rappresentati graficamente per tipologia di campione nelle figure 3, 4, 5, è emerso



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

come il contenuto totale di composti fenolici fosse significativamente differente nel campione fresco rispetto ai campioni fermentato e non fermentato. In particolar modo il campione non fermentato presentava un contenuto totale più alto del 33,6% rispetto al fermentato e del 46,9% rispetto al fresco.

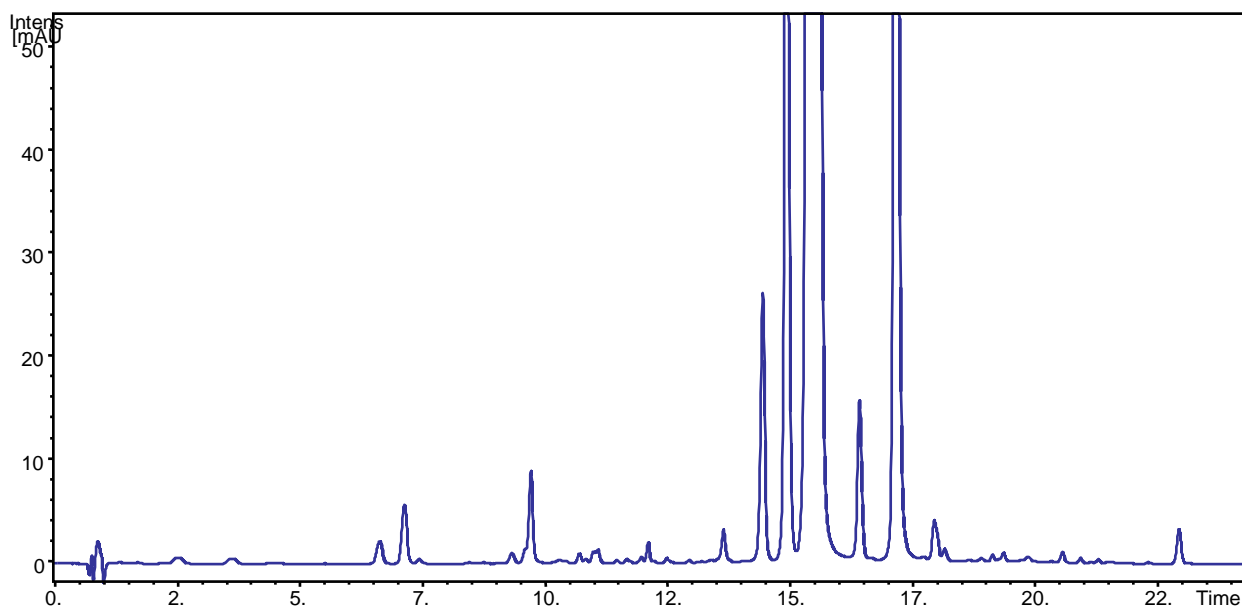


Figura 2a. Cromatogramma di frazione fenolica campione fermentato

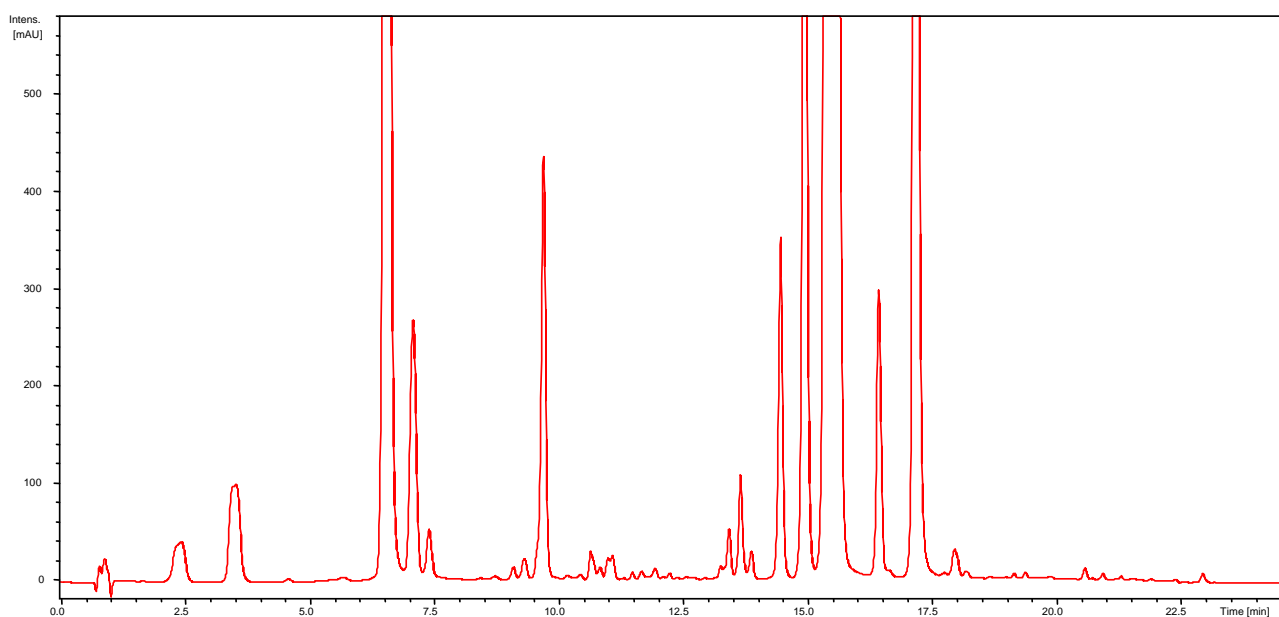


Figura 2b. Cromatogramma di frazione fenolica campione non fermentato



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

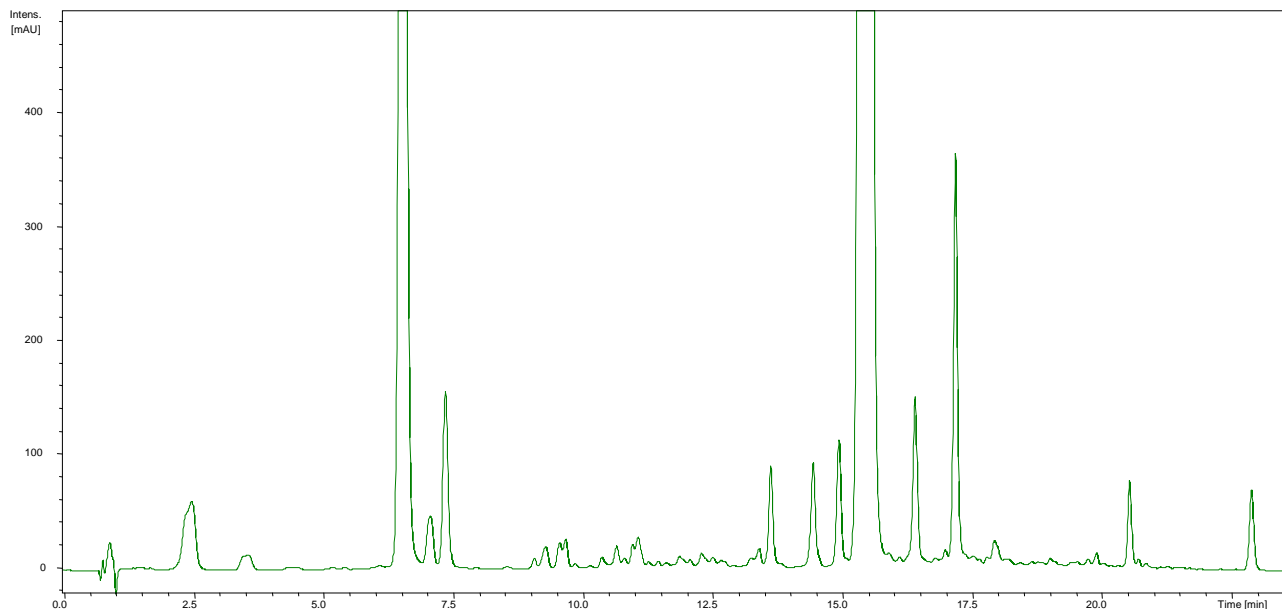


Figura 2c. Cromatogramma di frazione fenolica campione fresco

Composti fenolici	F	NF	Fresco
Acido diclorogenico	0,04±0,00	7,86±0,12	5,81±0,76
5-CQA	0,16±0,00	1,10±0,02	0,12±0,01
1,3-DCA	0,23±0,01	1,34±0,02	0,08±0,01
DCA*	0,71±0,05	0,99±0,03	0,20±0,02
3,4-DCA	2,65±0,07	4,14±0,14	0,24±0,02
3,5-DCA	20,25±0,27	21,33±0,42	16,63±1,46
1,5-DCA	6,11±0,09	8,15±0,25	0,76±0,12
Luteolina RUT	nd	0,11±0,02	nd
Luteolina GLR	0,02±0,00	0,21±0,01	0,13±0,01
Luteolina GLC	nd	0,02±0,00	nd
Luteolina	nd	nd	0,08±0,01
Apigenina GLR	0,32±0,02	0,73±0,03	0,28±0,05
Apigenina	0,05±0,00	0,01±0,00	0,09±0,01
TOTALE	30,55	45,99	24,43

Tabella 3 contenuto in composti fenolici dei campioni di carciofini (mg/g di campione secco)



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

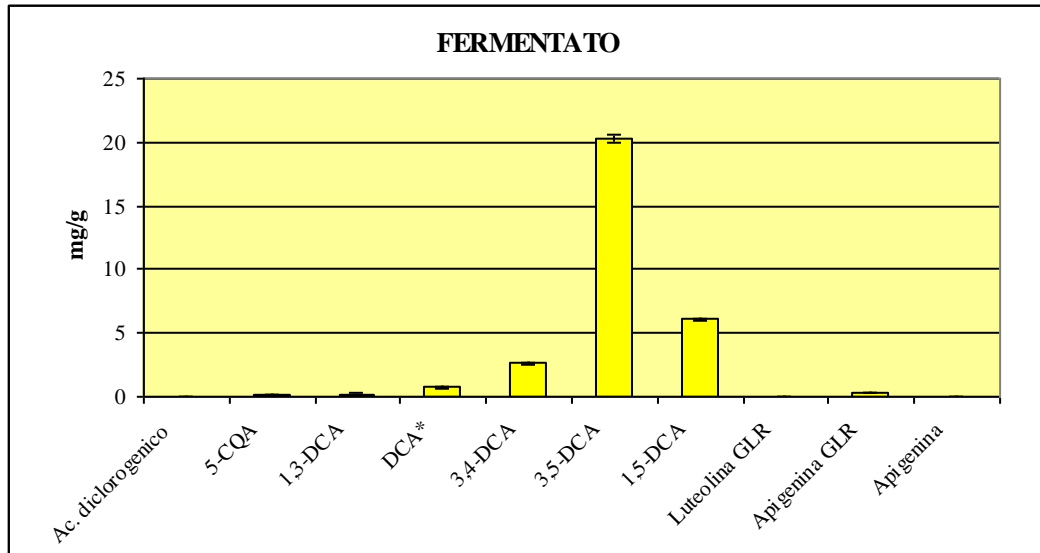


Figura 3. Contenuto in composti fenolici del prodotto fermentato (espresso come mg/g peso secco)

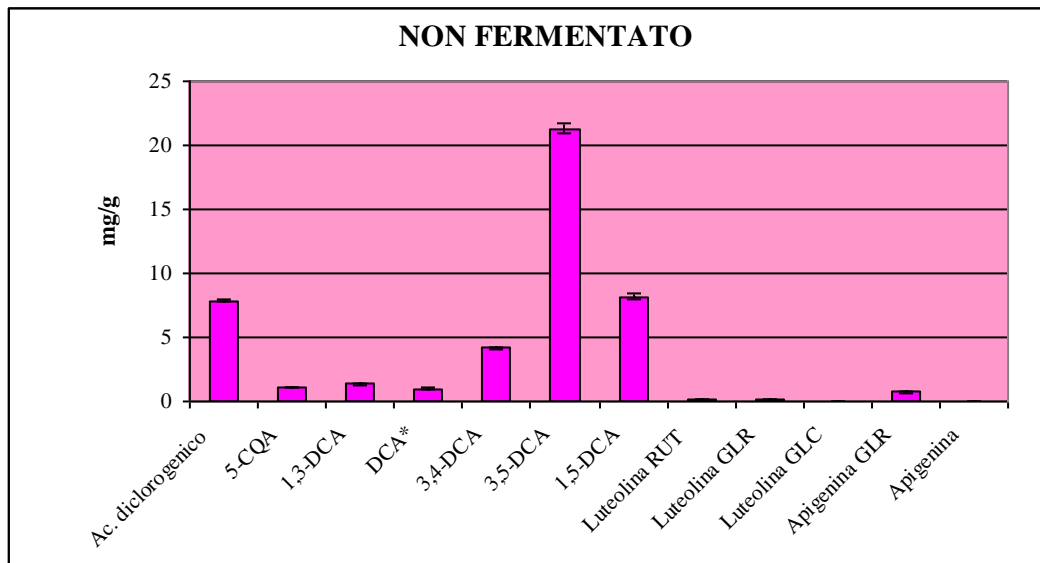


Figura 4. Contenuto in composti fenolici del prodotto non fermentato (espresso come mg/g peso secco)



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

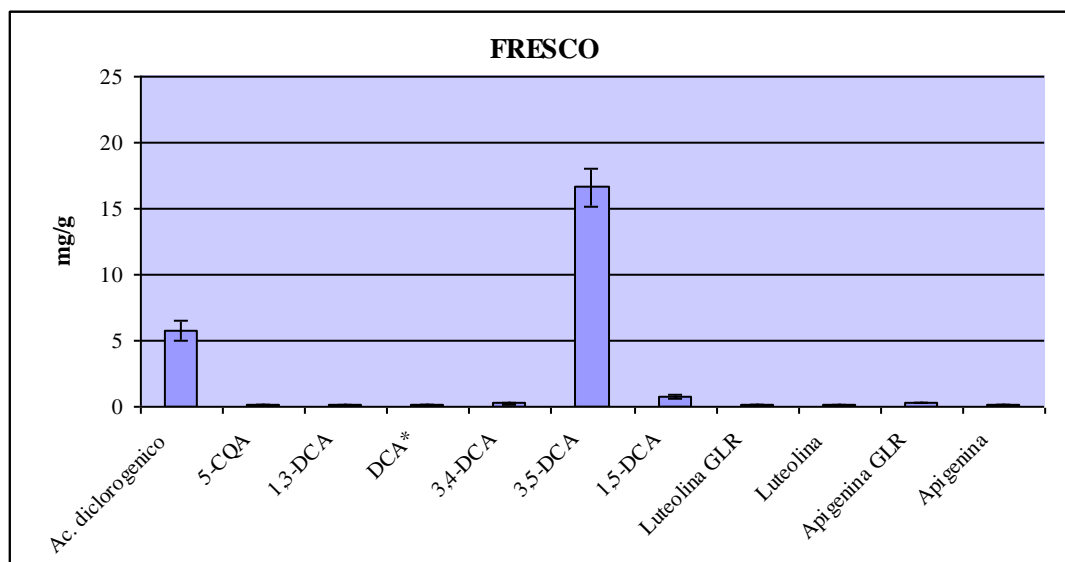


Figura 5. Contenuto in composti fenolici del prodotto fresco (espresso come mg/g peso secco)

Oltre a distinguersi per il contenuto totale in composti fenolici, i tre campioni analizzati si distinguevano anche per la diversa composizione. Come si può notare, infatti, alcuni derivati della luteolina (RUT e GLC) erano tipici solo del campione fermentato ed altri flavonoidi come apigenina e luteolina glucuronide (GLR) erano più abbondanti in tale campione rispetto al fermentato e al fresco. Allo stesso tempo però, la luteolina era presente solo nel campione fresco. Essendo quest'ultima un composto fenolico tipico anche dell'olio di oliva, non è da escludere che tale contributo sia dato proprio dall'olio stesso andando a giustificare l'assenza negli altri due campioni i quali sono stati conservati in olio differente.

All'interno della famiglia degli acidi fenolici, il più abbondante era rappresentato dal 3,5 acido dicaffeoilchinico, seguito dall'isomero 1,5-DCA e dal 3,4-DCA. Come è chiaramente evidente in tabella 2 e nei grafici sopra riportati, il contenuto degli ultimi due composti era significativamente differente nel campione fresco rispetto al fermentato e al non fermentato. Differenze rilevanti sono state riscontrate, inoltre, per l'acido diclorogenico il cui contenuto era drasticamente inferiore nel campione fermentato rispetto al non fermentato e al fresco.

Il diverso contenuto totale, così come la composizione in singoli fenoli dei tre campioni analizzati, potrebbe essere attribuita al differente trattamento tecnologico subito da tali campioni e nel caso del fresco, anche dalla materia prima utilizzata (carciofi).



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

5) POTERE ANTIOSSIDANTE COMPLESSIVO

L'attività antiossidante dei campioni di carciofini analizzati è stata determinata sull'estratto fenolico mediante il test del DPPH radicale. La metodica (Dudonnè *et al.*, 2009) prevedeva l'aggiunta di 0,1 mL di estratto fenolico a 2,9 mL di soluzione di DPPH radicale con determinazione dell'assorbanza, per via spettrofotometrica, a 517 nm per 30 minuti.

Dai risultati ottenuti e riportati in figura 6 è evidente come non vi siano differenze significative fra i campioni F e NF. Tali risultati non sono in linea con la quantità di composti fenolici riscontrata in tali campioni. Tuttavia, è doveroso sottolineare come l'attività antiossidante non sia unicamente attribuibile ai composti fenolici; inoltre, tutti i comuni test utilizzati per la determinazione dell'attività antiossidante risentono della presenza di altre sostanze interferenti nel test (es. proteine ecc..).

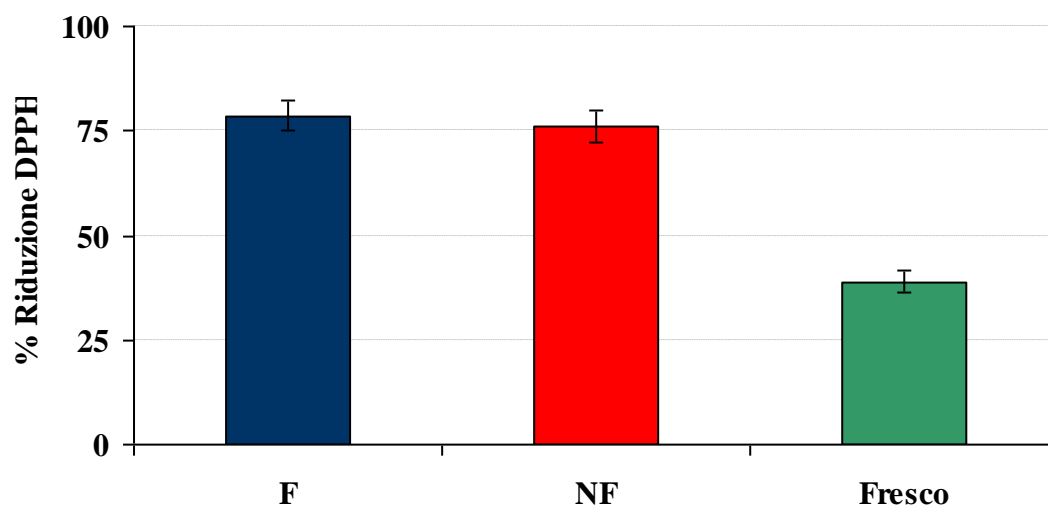


Figura 6. Attività antiossidante degli estratti fenolici dei campioni di carciofini analizzati (espressa come % di inibizione del radicale DPPH).



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

6) CONTENUTO IN ACIDO ASCORBICO

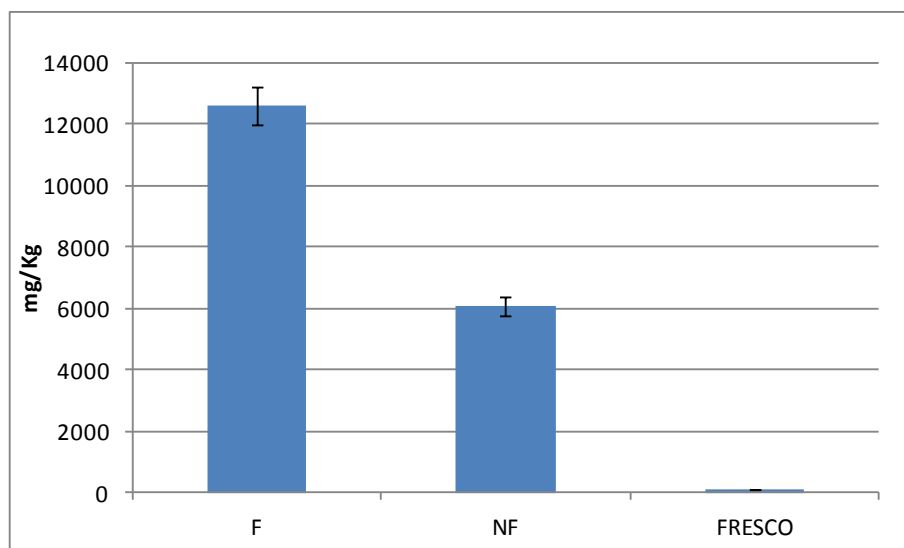


Figura 7. Contenuto in acido ascorbico (espresso come mg/Kg peso secco)

In figura 7 sono riportati i risultati relativi al contenuto di acido ascorbico nei 3 campioni. Il campione fermentato (F) è caratterizzato da un contenuto molto più alto rispetto agli altri (circa il doppio rispetto al non fermentato NF e 100 volte maggiore rispetto al Fresco). Tale risultato appare in contrasto con quanto riportato in letteratura, poiché solitamente l'acido ascorbico tende a diminuire dopo trattamento termico, mentre in questo caso i campioni con valori più alti sono quelli caratterizzati da una scottatura prima della messa in salamoia (F e NF). Tuttavia occorre considerare che tale acido è aggiunto come conservante durante il processo produttivo, in quantità e modalità non specificate dall'azienda. Sarebbe quindi necessario avere ulteriori informazioni per capire il significato di tale risultato.

7) CONTENUTO IN ACIDO FOLICO

In figura 8 sono riportati i risultati relativi al contenuto di acido folico nei 3 campioni, dai quali appare evidente come il campione fresco sia caratterizzato da un contenuto molto più alto di acido folico rispetto agli altri due. Tali differenza potrebbe essere dovuta all'assenza di scottatura all'inizio del processo produttivo, in quanto (come già detto per l'acido ascorbico) il calore riduce il contenuto in vitamine nei prodotti



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

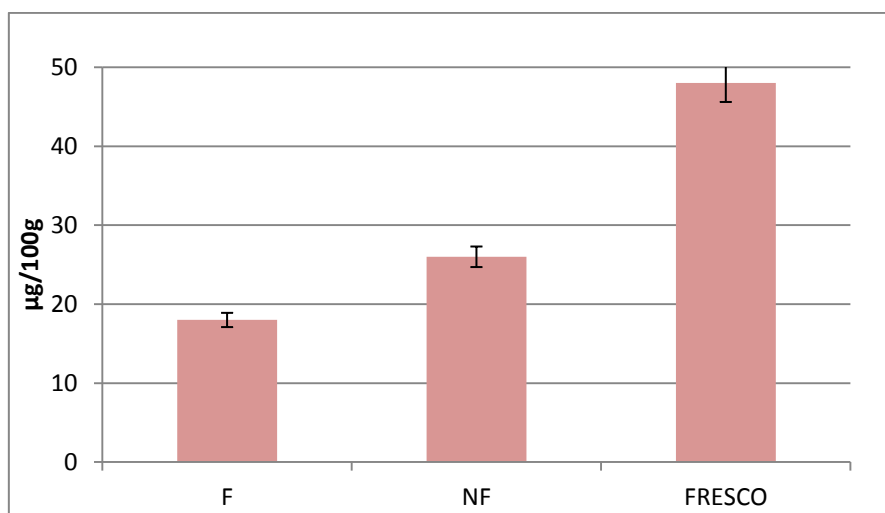


Figura 8. Contenuto in acido folico (espresso come µg/100g peso secco)

DATI RIPORTATI AL PESO SGOCCIOLATO

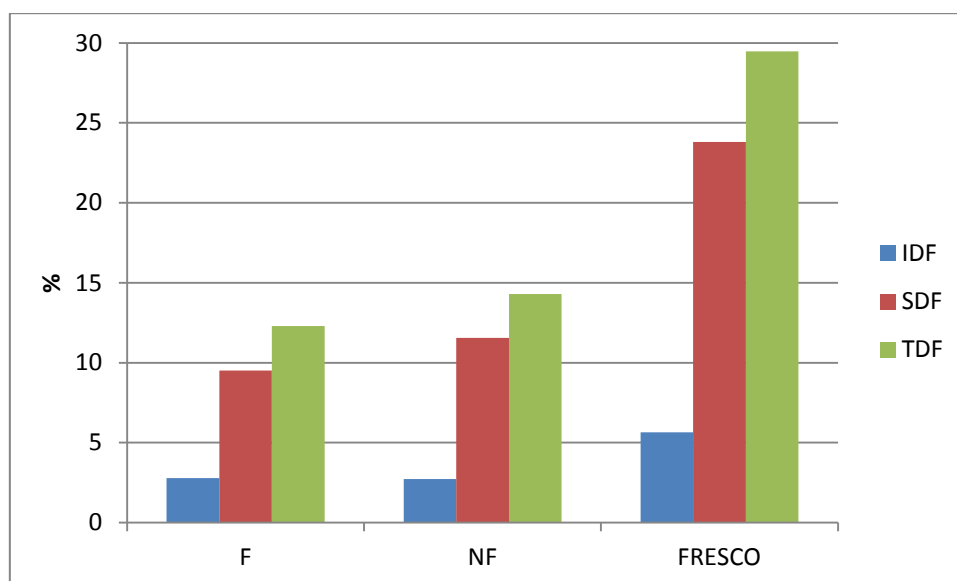


Figura 9. Contenuto in fibre solubili e insolubili (espressi come % sul peso sgocciolato)



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

Composti fenolici	F	NF	Fresco
Acido diclorogenico	0,01±0,00	2,07±0,12	3,65±0,76
5-CQA	0,04±0,00	0,29±0,02	0,07±0,01
1,3-DCA	0,06±0,01	0,35±0,02	0,05±0,01
DCA<	0,19±0,05	0,26±0,03	0,13±0,02
3,4-DCA	0,72±0,07	1,09±0,14	0,15±0,02
3,5-DCA	5,46±0,27	5,62±0,42	10,45±1,46
1,5-DCA	1,65±0,09	2,15±0,25	0,48±0,12
Luteolina RUT	nd	0,03±0,02	nd
Luteolina GLR	0,01±0,00	0,06±0,01	0,08±0,01
Luteolina GLC	nd	nd	nd
Luteolina	nd	nd	0,05±0,01
Apigenina GLR	0,09±0,02	0,19±0,03	0,18±0,05
Apigenina	0,01±0,00	nd	0,06±0,01
TOTALE	8,24	12,11	15,34

Tabella 4. Contenuto in composti fenolici dei campioni di carciofini (mg/g di campione sgocciolato)

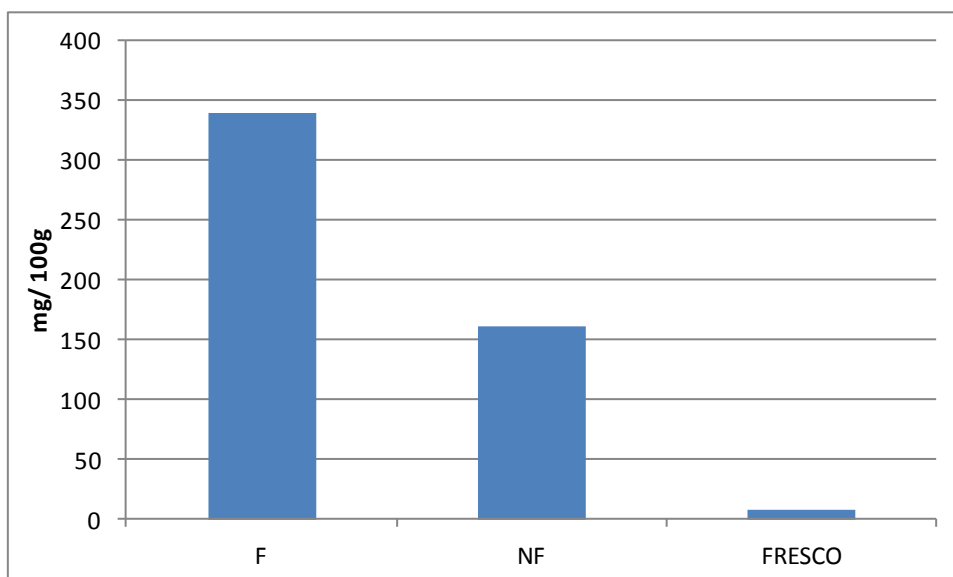


Figura 10. Contenuto in acido ascorbico (espresso come mg/100 g peso sgocciolato)



CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE
AGROALIMENTARE

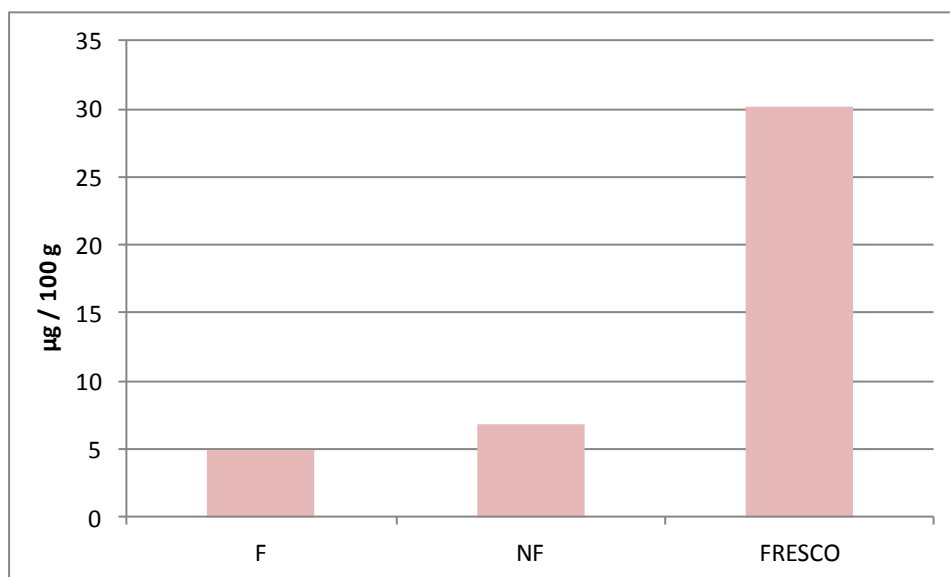


Figura 11. Contenuto in acido folico (espresso come µg/100g peso sgocciolato)

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., Mérillon, J.M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 1768–1774.
- Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T. F., DeVries, J. W. and Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 75, 360-367.
- Gómez-Caravaca, A.M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., Caboni, M.F. (2011). Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology. *J. Agric. Food. Chem.*, 59, 10815-10825.